Supplemento ordinario alla "Gazzetta Ufficiale" n. 125 dell'8 maggio 1978

Spedizione in abbonamento postale - Gruppo I

GAZZETTA UFFICIALE

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA — ROMA - Lunedì, 8 maggio 1978 — SI PUBBLICA TUTTI I GIORNI MENO I FESTIVI

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DI GRAZIA E GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE DELLE LEGGI E DECRETI - TELEFONO 6540139
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO - LIBRERIA DELLO STATO - PIAZZA GIUSEPPE VERDI, 10 - 00100 ROMA - CENTRALINO 8508

DECRETO MINISTERIALE 27 aprile 1978.

Norme concernenti i requisiti microbiologici, biologici, chimici e fisici delle zone acquee sedi di banchi e di giacimenti naturali di molluschi eduli lamellibranchi e delle zone acquee destinate alla molluschicoltura, ai fini della classificazione in approvate, condizionate e precluse.

DECRETO MINISTERIALE 27 aprile 1978.

Norme concernenti i requisiti delle acque destinate al rifornimento degli impianti di depurazione di molluschi eduli lamellibranchi. Elenco delle specie di molluschi eduli lamellibranchi depurabili. Modalità del trattamento di depurazione.

LEGGI E DECRETI

DECRETO MINISTERIALE 27 aprile 1978.

Norme concernenti i requisiti microbiologici, biologici, chimici e fisici delle zone acquee sedi di banchi e di giacimenti naturali di molluschi eduli lamellibranchi e delle zone acquee destinate alla molluschicoltura, ai fini della classificazione in approvate, condizionate e precluse.

IL MINISTRO DELLA SANITA'

Visti gli articoli 2 e 12 della legge 2 maggio 1977, n. 192;

Vista la legge 10 maggio 1976, n. 319, concernente le norme per la tutela delle acque dall'inquinamento;

Vista la legge 30 aprile 1962, n. 283, e successive modifiche di cui alla legge 26 febbraio 1963, n. 441;

Sentita la commissione di cui al decreto ministeriale 7 marzo 1978;

Sentito il Consiglio superiore di sanità;

Decreta:

Art. 1.

Ai fini della classificazione delle zone acquee sedi di banchi e giacimenti naturali di molluschi eduli lamellibranchi e delle zone acquee destinate alla molluschicoltura, in approvate e condizionate, sono prescritti i requisiti indicati negli articoli 2, 3, 4 e 5 del presente decreto.

La determinazione di tali requisiti è subordinata all'ispezione tecnico-sanitaria delle zone acquee ed ai relativi esami di laboratorio.

L'ispezione tecnico-sanitaria deve considerare la eventuale presenza e l'ubicazione delle sorgenti di contaminazione attuali (foci di fiumi, scarichi di altri corsi d'acqua, scarichi industriali, scarichi di fogne urbane, etc.), ivi comprese le sorgenti minori e le sorgenti di contaminazione stagionale, temporanea e potenziale (depositi di rifiuti solidi, percorsi e scarichi di imbarcazioni, balneazione, scarichi saltuari di acque luride, etc.), l'attivazione e l'efficienza funzionale di impianti per il trattamento dei reflui, nonché la diffusione di materiali o sostanze inquinanti nelle diverse condizioni idrografiche.

La distanza delle zone acquee approvate e condizionate dalle sorgenti di contaminazione di cui al precedente comma deve essere comunque non inferiore ai 2000 metri, nel caso di sorgenti di contaminazione chimica e non inferiore ai 2000 metri ed ai 500 metri, rispettivamente per le acque approvate e condizionate, nel caso di sorgenti di contaminazione microbica.

Delle ispezioni effettuate deve essere redatta relazione concernente l'identificazione e l'ubicazione delle sorgenti di contaminazione, la valutazione della diffusione dei contaminanti, i risultati degli accertamenti di laboratorio di cui ai successivi articoli, nonché la salinità e la torbidità delle acque.

I dati di cui al precedente comma devono essere utilizzati per le ispezioni periodiche previste dall'articolo 8 della legge.

Gli esami di laboratorio devono essere eseguiti secondo le seguenti modalità.

Iniziando dalle sorgenti di contaminazione vengono tracciate ideali linee radiali lungo le quali, a partire dalla distanza specificata al quarto comma, si effettuano prelievi a sondaggio, tenendo conto di tutti quegli elementi ordinari e straordinari che possano direttamente o indirettamente influire sulle condizioni igienico-sanitarie delle acque, fino a che non si raggiungono zone acquee i cui esami di laboratorio, effettuati secondo le allegate metodiche di analisi, danno risultati corrispondenti ai valori dei requisiti microbiologici, biologici, chimici e fisici delle acque, indicati nel presente decreto.

Per la delimitazione delle acque approvate e condizionate si procede, a partire da tali zone, secondo i criteri indicati nei successivi articoli.

Art 2.

Requisiti microbioligici delle acque

La delimitazione delle zone acquee approvate e condizionate, secondo linee di demarcazione isobatteriche, è subordinata ai risultati dell'esame microbiologico dei campioni di acqua e molluschi eduli lamellibranchi.

Per il prelievo dei campioni di acqua occorre:

effettuare, per la delimitazione delle zone acquee condizionate ed approvate, un numero di prelievi non inferiore a 5 per ogni 1000 metri lineari sulle direttrici radiali;

procurare che il prelievo dei campioni si realizzi ad una profondità di 50 cm circa dal pelo dell'acqua, utilizzando una delle tecniche in uso;

prendere nota della direzione e della velocità dei venti all'atto del prelievo, nonché delle maree;

provvedere al rilevamento della temperatura dell'aria, della salinità e della temperatura dell'acqua al momento del prelievo.

I campioni di acqua devono essere esaminati entro 12 ore dal prelievo e fino al momento dell'esame devono essere mantenuti ad una temperatura da 0° e + 5°C.

Nello stesso punto di prelievo delle acque, ove risulti possibile, ovvero in altri punti vicini, devono essere prelevati campioni di molluschi eduli lamellibranchi, da usare come indicatori biologici per l'esame batteriologico, avendo cura di eliminare gli individui manifestamente non vitali.

L'esame deve essere eseguito entro 36 ore dal prelievo e fino a tale momento i campioni devono essere mantenuti ad una temperatura tra 0° e + 5°C.

I risultati di tali esami consentono la classificazione delle zone acquee sulla base dei requisiti sottoindicati:

1) *Requisiti microbiologici delle zone acquee approvate*:

a) acqua:

Escherichia coli non oltre 2/100 ml.

E' consentito nel 10 % dei campioni un titolo massimo di 7 *Escherichia coli*/100 ml purché, in ogni caso, non si superino i valori indicati nella successiva lettera *b*);

b) Molluschi eduli lamellibranchi (corpo e liquido intervalvare):

Escherichia coli: non oltre 4/ml;
Salmonelle: assenti in 25 ml.

2) *Requisiti microbiologici delle zone acquee condizionate*:

a) acqua:

Escherichia coli non oltre 34/100 ml.

E' consentito nel 10 % dei campioni un titolo massimo di 49 *Escherichia coli*/100 ml purché in ogni caso, non si superino i valori indicati per i molluschi nella successiva lettera *b*);

b) Molluschi eduli lamellibranchi (corpo e liquido intervalvare):

Escherichia coli: non oltre 39/ml.

I risultati degli accertamenti sui molluschi sono determinanti ai fini della classificazione delle acque, come condizionate.

Valori superiori a quelli indicati nella precedente lettera *b*) devono far classificare le acque come precluse.

Art. 3.

Requisiti chimici delle acque

Le acque approvate e condizionate devono possedere gli stessi requisiti chimici.

La delimitazione delle zone acquee approvate e condizionate e di quelle precluse è subordinata ai seguenti accertamenti:

1) Ricerca nelle acque del mercurio e del piombo.

Per la determinazione del mercurio e del piombo nelle acque si deve far ricorso all'impiego di campioni di molluschi eduli lamellibranchi che, per i processi di accumulo, sono da ritenere adeguati indicatori biologici autointegranti nel tempo.

Nei campioni di molluschi eduli lamellibranchi (corpo), i requisiti chimici devono essere:

mercurio: non oltre 0,7 ppm.

piombo: non oltre 2 ppm.

Valori superiori devono far classificare le acque come precluse.

2) Eventuale ricerca di altre sostanze chimiche connesse all'esistenza di particolari sorgenti di contaminazione.

L'accertamento nei campioni di acqua di una contaminazione imputabile alle sostanze di cui sopra deve parimenti far classificare le acque come precluse.

Art. 4.

Requisiti biologici delle acque

Le caratteristiche biologiche delle acque approvate e condizionate devono essere tali da assicurare l'idoneità all'alimentazione dei molluschi eduli lamellibranchi in esse raccolti o prodotti.

Per l'accertamento di tali caratteristiche necessita il controllo della popolazione fitoplanctonica nelle zone acquee.

Qualora si rilevino fenomeni di sviluppo di fitoplancton o la fioritura in atto, si deve effettuare il prelievo, nelle zone acquee sedi di banchi e giacimenti eduli lamellibranchi ed in quelle destinate alla moluschicoltura, di campioni di moluschi ad elevato potere filtrante (*mytilus galloprovincialis, ostrea edulis, tapes decussatus*, etc.) da sottoporre al controllo biologico per la determinazione delle tossine idrosolubili e liposolubili rispettivamente secondo i metodi ufficiali U.S.A. - A.O.A.C. (Association of official agricultural chemists. Paralytic Shellfosh Poisoning, Biological Method: Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricoltural Chemists) e Method for the bioassay of Gymnodinium breve toxin in shellfish (Recommended procedures for the examination of sea water and shellfish - Mc Farren e coll.).

I campioni di molluschi eduli lamellibranchi prelevati, devono avere i seguenti requisiti biologici:

non più di 40 microgrammi di biotossine algali idrosolubili per 10 g di corpo;

assenza di biotossine algali liposolubili.

L'accertamento in campioni di molluschi — prelevati ai fini dei controlli di cui al successivo art. 6, nelle acque sedi di banchi e giacimenti di molluschi eduli ed in quelle utilizzate per la molluschicoltura — di biotossine algali idrosolubili in concentrazioni superiori a microgrammi 40 per cento grammi di corpo e/o la presenza di biotossine liposolubili, comporta la sospensione temporanea dell'attività degli impianti di coltivazione o della libera raccolta di molluschi eduli lamellibranchi, fino a quando non risultino ripristinate le condizioni di idoneità biologica di cui ai commi precedenti.

Art. 5.

Requisiti fisici

I requisiti fisici delle acque approvate e condizionate e dei molluschi eduli lamellibranchi in esse prodotti o raccolti si riferiscono ai limiti di radioattività dovuta a nuclidi radioattivi.

Ai fini del controllo dei requisiti delle acque le concentrazioni di nuclidi radioattivi non devono superare i valori di cui ai decreti ministeriali 6 giugno 1968 e 2 febbraio 1971, emanati ai sensi del decreto del Presidente della Repubblica 13 febbraio 1974, n. 185.

Art. 6.

I controlli microbiologici, biologici, chimici e fisici nonché i periodici sopralluoghi ispettivi tecnico-sanitari devono essere effettuati quando lo richiedono particolari circostanze sanitarie e, comunque, almeno ogni due anni, a cura delle autorità di cui all'art. 8 della legge 2 maggio 1977, n. 192.

Art. 7.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, addì 27 aprile 1978

Il Ministro: Anselmi

METODICHE DI ANALISI MICROBIOLOGICHE

1. Acque

a) *Ricerca presuntiva dei coliformi*

Si seminano 10 ml di acqua per provettone in 5 provettoni di brodo lattosato concentrato 2x; ml 1 di acqua per provetta in 5 provette di brodo lattosato a concentrazione « Standard »; ml 0,1 di acqua per provetta in 5 provette di brodo lattosato a concentrazione « Standard ».

Sia i provettoni che le provette devono essere muniti di campanule di Durham.

I provettoni e le provette in cui si sia formata, dopo 24 o 48 ore di incubazione a 37°C, una qualsiasi quantità di gas, debbono essere sottoposti alla ricerca dell'*Escherichia coli.*

b) *Ricerca* Escherichia coli:

Dai provettoni e dalle provette risultati positivi in brodo lattosato per la ricerca presuntiva dei coliformi, seminare rispettivamente ml 0,1 in una provetta con campanula di Durham contenente ml 10 di brodo lattosato con bile verde brillante e ml 0,1 in una provetta contenente ml 10 di acqua triptonata.

Incubare a 44°C per 48 ore.

La ricerca dell'*E. coli* risulterà positiva se si rileverà formazione di gas nelle provette contenenti brodo lattosato con bile verde brillante e contemporaneamente formazione di indolo nelle provette contenenti acqua triptonata.

La ricerca dell'indolo viene eseguita aggiungendo a ciascuna provetta di acqua triptonata ml 0,5 di reattivo di Kovacs; la reazione è positiva se dopo breve agitazione si separa sulla superficie del terreno uno strato colorato di rosso ciliegia.

In base al numero di provette di brodo lattosato con bile verde brillante risultati positivi all'incubazione a 44°C e alla contemporanea produzione di indolo, si risale al numero più probabile di *Escherichia coli* per cento ml di acqua applicando la tabella 1.

Tabella 1

Numero di tubi positivi su			Indice MPN per 100/ml.
5 da 10 ml.	5 da 1 ml.	5 da 0,1 ml.	
0	0	1	2
0	1	0	2
0	2	0	4
1	0	0	2
1	0	1	4
1	1	0	4
1	1	1	6
1	2	0	6
2	0	0	5
2	0	1	7
2	1	0	7
2	1	1	9
2	2	0	9
2	3	0	12
3	0	0	9
3	0	1	11
3	1	0	11
3	1	1	14
3	2	0	14
3	2	1	17
3	3	0	17
4	0	0	13
4	0	0	17
4	1	0	17
4	1	1	21
4	1	2	26
4	2	0	22
4	2	1	26
4	3	0	27
4	3	1	33
4	4	0	34
5	0	0	23
5	0	1	31
5	0	2	43
5	1	0	33
5	1	1	46
5	1	2	63
5	2	0	49
5	2	1	70
5	2	2	94
5	3	0	79
5	3	1	109
5	3	2	141
5	3	3	175
5	4	0	130
5	4	1	172
5	4	2	221
5	4	3	278
5	4	4	345
5	5	0	240
5	5	1	348
5	5	2	542
5	5	3	918
5	5	4	1609

2. Molluschi eduli

I campioni prelevati da sottoporre ad analisi sono costituiti da 50-100 invertebrati.

I molluschi, al momento del controllo, vengono isolati, spazzolati in modo da togliere il fango, le incrostazioni, nonchè epifiti, epizoi, ecc., eventualmente presenti; lavati con acqua clorata raffreddata con ghiaccio di acqua, sciacquati con acqua pura.

Dieci individui del campione vengono scelti a caso. Ogni singolo mollusco, viene aperto con bisturi sterile ed il contenuto (corpo dell'animale ed acqua intervalvare) viene lasciato cadere in un recipiente sterile graduato, in modo da poter valutare il volume totale dei molluschi controllati.

Si porta il volume totale a 200 ml, con soluzione fisiologica sterile; tutto il materiale viene omogenizzato con idonea attrezzatura indi filtrato per garza sterile.

a) *Ricerca presuntiva dei coliformi.*

Il liquido che si ottiene dalla filtrazione viene seminato in brodo lattosato secondo il seguente schema:

ml 10 per provettone in 3 provettoni di brodo lattosato concentrato 2x;

ml 1,0 per provetta in 3 provette di brodo lattosato a concentrazione « Standard »;

ml 0,1 per provetta in 3 provette di brodo lattosato a concentrazione « Standard ».

In casi particolari, quando si voglia conoscere l'esatto titolo colimetrico di molluschi altamente contaminati, si ricorrerà a maggiori diluizioni del materiale.

Tutti i provettoni e provette in cui si sia formata, dopo 48 ore d'incubazione a 37°C, una qualsiasi quantità di gas, debbono essere sottoposti alla seguente prova *b*).

b) *Ricerca della* Escherichia coli:

Dai provettoni e dalle provette risultati positivi in brodo lattosato per la ricerca presuntiva dei coliformi, seminare rispettivamente ml 0,1 in una provetta con campanula di Durham contenente ml 10 di brodo lattosato con bile verde brillante e ml 0,1 in una provetta contenente ml 10 di acqua triptonata.

Incubare a 44°C per 48 h.

La ricerca dell'*E. coli* risulterà positiva se si rileverà formazione di gas nelle provette contenenti brodo lattosato con bile verde brillante e contemporaneamente formazione di indolo nelle provette contenenti acqua triptonata.

La ricerca dell'indolo viene eseguita aggiungendo a ciascuna provetta di acqua triptonata ml 0,5 di reattivo di Kovacs; la *reazione è positiva se dopo* breve agitazione si separa sulla superficie del terreno uno strato colorato di rosso ciliegia.

In base al numero di provette di brodo lattosato con bile verde brillante risultati positivi all'incubazione a 44°C e alla contemporanea produzione di indolo, si risale al numero più probabile di *Escherichia coli* per cento ml seminati applicando la tabella 2.

$$\text{MPN/ml di mollusco} = \frac{N \cdot 2}{V}$$

dove:

N = MPN/100 ml seminati;
V = volume totale dei molluschi controllati espresso in ml.

TABELLA 2

Numero più probabile - Tabella semplificata

Numero di tubi positivi su			Numero più probabile per *100 ml.* seminati
3 da 10 ml.	3 da 1 ml.	3 da 0,1 ml.	
0	0	0	0
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	12
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	più di 1100/ml

3. PREPARAZIONE DEI TERRENI DI COLTURA PER IL CONTROLLO MICROBIOLOGICO DELLE ACQUE MARINE E DEI MOLLUSCHI

A) *Brodo lattosato.*

Composizione:

estratto di carne	g	3
peptone	»	5
lattosio	»	5
acqua distillata	ml	1000

PH (dopo sterilizzazione) 6,8 — 7,0.

E' preferibile usare le preparazioni disidratate del commercio.

Il terreno viene distribuito in provettoni e provette munite di campanula di Durham.

Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15'.

Il terreno alla concentrazione normale indicata è adatto alla semina di quantità non superiori a ml 1 per tubo (provetta).

Per la semina di volumi più elevati (10 ml) occorrerà preparare il terreno in concentrazione doppia e distribuirlo nella quantità di ml 10 circa in tubi di fermentazione di maggiori dimensioni, mm 22 × 180 circa (provettoni).

I tubi da fermentazione pronti per l'uso non devono essere conservati in frigorifero per evitare che nel successivo riscaldamento, durante l'incubazione, la liberazione dei gas disciolti a bassa temperatura provochi la formazione di una bolla nella campanula interna, con conseguenti possibilità di errore al momento della lettura.

B) *Brodo lattosato con bile e verde brillante*:

Composizione:

peptone	g	10
lattosio	»	10
bile disidratata	»	20
verde brillante	»	0,0133
acqua distillata	ml	1000

pH 7,2.

E' senz'altro da preferirsi l'uso del terreno in polvere del commercio.

Sciogliere g 40 di terreno in polvere in ml 1000 di acqua distillata e distribuire in tubi da fermentazione come indicato per il brodo lattosato.

Per la sterilizzazione e la conservazione del terreno pronto per l'uso vale quanto riportato per il brodo lattosato.

C) *Preparazione a base di acqua triptonata*:

triptone	g	10
sodio cloruro	»	5
acqua distillata q.b. a	ml	1000

pH 7,5

Distribuire in provette e sterilizzare a 120°C per 15'.

D) *Reattivo di Kovacs*

P - dimetilamino benzaldeide	g	5
alcool amilico	ml	75
acido cloridrico concentrato	»	25

Sciogliere l'aldeide in alcool amilico a bagno maria a 50-55°C. Raffreddare ed aggiungere l'ac. cloridrico. Conservare a 4°C a riparo dalla luce. Il colore della soluzione al momento della preparazione è giallo tendente al bruno.

RICERCA DELLE SALMONELLE NEI MOLLUSCHI EDULI

A) *Prearricchimento*

g 25 di prodotto, formato da polpa di mollusco e corrispondente liquido intervalvare, vengono seminati in ml 225 di acqua peptonata tamponata avente la seguente composizione:

peptone	g	10
cloruro di sodio	»	5
fosfato bisodico 12 H_2O	»	9
fosfato monopotassico	»	1,5
acqua distillata	ml	1000

pH 7,2 - sterilizzare a 121°C per 15 minuti.

Incubare a 37°C ± 1 per 18-24 ore.

B) *Arricchimento*

ml 10 della coltura di cui in *A*) vengono seminati, rispettivamente, in ml 100 di entrambi i terreni colturali aventi la seguente composizione:

1) *Brodo di Muller-Kauffmann*:

triptone	g	7
peptone di soya	»	2,3
cloruro di sodio	»	2,3
carbonato di calcio	»	25
tiosolfato di sodio	»	40,7
bile di bue	»	4,75
H_2O q.b. a	ml	1000

Sciogliere e portare a ebollizione per 10'. Lasciare raffreddare a 45°C e aggiungere ml 19 di una soluzione allo iodio (g 2 di iodio + g 2,5 di ioduro di potassio in ml 100 di acqua distillata) e ml 9,5 di una soluzione di verde brillante allo 0,1%. Distribuire in beute (ml 100 di terreno), dopo la semina, porre le beute in bagno maria a 43°C per 18-24 h.

2) *Brodo selenito-cistina*:

peptone	g	5
lattosio	»	4
fosfato sodico	»	10
selenito acido di sodio	»	4
L-cistina	»	0,01
H_2O	ml	1000

pH 7.

Sciogliere a calore moderato, distribuire in beute (100 ml di terreno) non sterilizzare. Conservare in frigorifero ed usare entro 1 settimana.
Incubare a 37°C ± 1 per 18-24 ore.

C) *Isolamento*

Dalle colture di cui in *B*) eseguire isolamenti mediante strisci multipli su piastre contenenti i terreni colturali aventi la seguente composizione:

1) *Agar verde brillante*:

estratto di carne	g	5
peptone	»	12
estratto di lievito	»	3
fosfato bisodico	»	1
fosfato monosodico	»	0,6
lattosio	»	10
saccarosio	»	10
rosso fenolo	»	0,09
verde brillante	»	0,0047
agar	»	12
acqua distillata	ml	1000

pH 6,9 - portare alla ebollizione e distribuire in piastre. Le piastre devono essere allestite alcuni giorni prima della prova per consentirne una parziale disidratazione.
Incubare a 37°C ± 1 per 24 ore.

Lettura:

Salmonelle: colonie grandi incolori su fondo rosso brillante. *Germi fermentanti il lattosio*: generalmente inibiti; possono dar luogo a colonie giallo-verdastre.

Proteus: generalmente inibiti; possono dar luogo a colonie piccole, gracili con alone di sciamatura su fondo rosso brillante.

Pseudomonas: generalmente inibiti; possono dar luogo a colonie con riflessi verdastri metallici.

2) *Agar desossicolato citrato modificato da Hynes* (particolarmente indicato per la ricerca della *Salmonella typhi*):

estratto di carne	g	5
proteose peptone	»	5
lattosio	»	10
citrato di sodio	»	8,5
sodio tiosolfato	»	5,4
ferro citrato	g	1
desossicolato di sodio	»	5
rosso neutro	»	0,02
agar	»	20

1) Sciogliere l'estratto di carne in 200 ml di acqua distillata, far bollire ed aggiustare il pH a 7,3.

Aggiungere a questa soluzione il proteose peptone e sterilizzare a 120°C per 20 minuti.

2) Sciogliere a caldo l'agar in 800 ml di acqua distillata e filtrare per carta.

Mescolare le soluzioni di cui sopra ed aggiungervi ml 1,25 di una soluzione di rosso neutro al 2% e g 10 di lattosio.

Ripartire in matracci in ragione di 100 ml cadauno.

Sterilizzare a vapore fluente per un'ora e quindi a 115°C per 10 minuti.

Al momento dell'uso far fondere a bagno-maria e aggiungere ad ogni matraccio ml 5, rispettivamente, delle seguenti soluzioni *A* e *B* e versare quindi in piastra di Petri.

Soluzione A:

citrato di sodio	g	17
citrato di ferro	»	2
acqua distillata	ml	100

Soluzione B:

desossicolato di sodio	g	10
acqua distillata	ml	100

Le soluzioni *A* e *B* non vanno sterilizzate.
Incubare a 37°C ± 1 per 24 ore.

Lettura:

colonie rosse con centro nero = citrobatteri o arizona (generalmente sviluppano in 48 h);

colonie rosse = coliformi lattosio positivi;

colonie bianche con centro rosso = coliformi lattosio positivi lenti;

colonie incolori = enterobatteri, lattosio negativi e idrogeno solforato-negativi (shigelle o salmonelle o coliformi lenti);

colonie incolori con centro nero = enterobatteri, lattosio negativi e idrogeno solforato positivi (salmonelle o Pr. hauseri);

colonie rosate = *Pr. morganii, Sh. somney* o *S. Typhi;*

colonie incolori con centro arancio = *Pr. rettgeri Providencia;*

colonie mucose, grandi, rosse che diventano bianche = *Klebsiella.*

D) *Prove di conferma*

Le colonie riferibili a salmonelle, Arizona, shigelle, sviluppatesi nel terreno solido di isolamento vengono inoculate in provette contenenti agar di Kligler avente la seguente composizione:

estratto di carne	g	3
estratto di lievito	»	3
peptone pepsico	»	15
proteose peptone	»	5
lattosio	»	10
destrosio	»	1
ferro citrato	»	0,3
cloruro di sodio	»	5
sodio tiosolfato	»	0,3
agar	»	15
rosso fenolo	»	0,05
acqua distillata q.b. a	ml	1000

pH 7,4 - Distribuire in provette. Sterilizzare a 120°C per 15'. Far solidificare a becco di clarino.

Tecnica: con ago prelevare la colonia in esame e seminarla in una provetta contenente il terreno di cui sopra, mediante strisciamento in superficie ed infissione nella massa del substrato.

Incubare le semine a 37°C ± 1° per 24 ore.

Lettura: la presenza di salmonelle è rivelata da:

viraggio del terreno da rosso a giallo sul fondo della provetta;

assenza di viraggio sulla superficie del terreno;

eventuale produzione di gas;

eventuale annerimento del terreno per produzione di idrogeno solforato.

Shigelle e Arizona si comportano in questo terreno come descritto per le salmonelle. Si fa, tuttavia, presente che alcuni ceppi si comportano come i germi lattosio positivi.

Le colture presentanti le caratteristiche descritte, vengono sottoposte ad accertanti morfologici, previa colorazione del Gram, biochimici e sierologici onde procedere alla identificazione del *Genere* ed escludere l'eventuale presenza di enterobatteri non patogeni.

1) *Ricerca della β-galattosidasi.*

Sospendere un'ansata della coltura in Kligler in ml 0,25 di soluzione fisiologica; aggiungere una goccia di toluene e agitare.

Porre per pochi minuti a 37°C ± 1° indi aggiungere ml 0,25 di una soluzione di ONPG (ortonitrofenil-d galattopiranoside).

Porre in b.m. a 37°C ± 1° per 24 ore.

Reattivo ONPG:

A) Soluzione tampone di fosfato monosodico pH 7:

sciogliere g 6,9 di fosfato monosodico in ml 45 di acqua distillata;

neutralizzare con una soluzione concentrata di idrato di sodio; portare a ml 50 con acqua distillata;

mantenere a 4°C.

B) Soluzioni di ONPG M/75:

sciogliere ml 80 di ONPG in ml 15 di acqua distillata precedentemente riscaldata a 50°C ± 1°;

far raffreddare e aggiungere ml 5 della soluzione tampone di cui in *A*);

mantenere la soluzione che deve rimanere incolore, a 4°C;

prima dell'uso porre tale soluzione a 37°C ± 1° onde ridisciogliere i fosfati eventualmente precipitati.

Lettura: la presenza di β-galattosidasi viene evidenziata dalla comparsa di un colore giallo intenso che si manifesta, in generale dopo 1-3 ore o, massimo, entro 24 ore di osservazione.

2) *Ricerca della fenil-alamino-piruvicasi* (APP).

Sospendere un'ansata della coltura in Kligler in ml 0,5 di soluzione di 1-fenilalanina allo 0,4%.

Incubare a 30°-37°C per 10-15'.

Aggiungere 1-2 gocce del reattivo avente la seguente composizione:

soluzione semisatura di allume ferrico	ml	5
solfato di ammonio	g	2
acido solforico al 10%	ml	1

Lettura: la comparsa di una colorazione verde indicherà l'avvenuta trasformazione della fenilalanina in acido fenilpiruvico.

3) *Ricerca della lisino-decarbossilasi* (LDC).

Dalla coltura in Kligler eseguire una semina nel terreno avente la seguente composizione:

peptone	g	5
estratto di carne	»	5
piridossale	»	0,005
soluzione acquosa di bremo-cresol-porpora 1/500	ml	5
soluzione acquosa di rosso cresolo 1/500	»	2,5
glucosio	g	0,5
acqua distillata q.b. a	ml	1000

Disciogliere, portare a pH 6,0 indi aggiungere:

L-lisina bicloridrato	g	10

Distribuire in provette; sterilizzare a 120°C per 15'.

Incubare le semine a 37°C ± 1° per 4 giorni, dopo aver ricoperto la superficie del terreno con olio di vasellina sterile.

Lettura: la comparsa di una colorazione bleu-violetta indicherà l'avvenuta decarbossilazione della lisina.

4) *Utilizzazione del malonato* (MAL)

Dalla coltura in Kligler eseguire una semina nel terreno avente la seguente composizione:

estratto di lievito	g	1
solfato di ammonio	»	2
fosfato bipotassico	»	0,6
fosfato monopotassico	»	0,4
cloruro di sodio	»	2
malonato di sodio	»	3
glucosio	»	0,25
bleu bremotimolo	»	0,025
acqua distillata q.b. a	ml	1000

Distribuire in provette; sterilizzare a 120°C per 15'.

Incubare le semine a 37°C ± 1° per 48 ore.

Lettura: il viraggio del terreno colturale del verde al bleu oltremare indicherà l'avvenuta utilizzazione del malonato, onde facilitare l'interpretazione dei risultati ottenuti dagli accertamenti biochimici descritti, può essere utile schematizzare in tabella il comportamento, di massima, dei gruppi di germi presi in esame.

TABELLA

Accertamenti biochimici	*Salmonella*	*Arizona*	*Shigella*	*Proteus*	*Providencia*
β-galattosidasi	—	−0+	−0+	—	—
APP	—	—	—	+	+
LDC	+0−	+	—	/	/
MAL	—	+	/	/	/

METODO PER LA DETERMINAZIONE DEL PIOMBO NEI MOLLUSCHI

1. PRINCIPIO

Il campione, addizionato di nitrato di magnesio, è essiccato e carbonizzato su piastra riscaldante sotto epiradiatore, e successivamente incenerito in muffola a 450°C. Le ceneri sono riprese con acido cloridrico e sulla soluzione si esegue il doaggio del piombo mediante spettrofotometria di assorbimento atomico con fiamma aria-acetilene.

Eventuali perdite dovute all'incenerimento sono calcolate mediante la misura della resa chimica di tutto il procedimento analitico.

2. Apparecchiatura

2.1. *Omogenizzatore ad immersione in acciaio inox.*

2.2. *Capsule di platino fondo piatto* (diametro cm 8; altezza cm 3).

2.3. *Piastra scaldante termoregolabile.*

2.4. *Epiradiatori.*

2.5. *Spettrofotometro per assorbimento atomico con bruciatore alimentato con fiamma aria-acetilene e munito da lampada a piombo* (a scarica o a catodo cavo).

3. Reattivi

3.1. *Soluzione di riferimento contenente* 1000 µg/ml di piombo.

Diluire questa soluzione al momento dell'uso in modo da ottenere una concentrazione di 10 µg/ml di piombo.

3.2. *Soluzione di nitrato di magnesio esaidrato* (conc. 50 % p/v)

3.3. *Acido nitrico concentrato* (d = 1,413).

3.4. *Acido cloridrico* 4N.

4. Procedimento

4.1. *Preparazione del campione.*

Prelevare direttamente nel recipiente di omogenizzazione, g 50 ± 0,05 della parte edibile dei molluschi ed aggiungere g 25 di soluzione di nitrato di magnesio. Omogenizzare fino a sottile suddivisione.

4.2. *Mineralizzazione:*

Trasferire in quattro capsule di platino quattro aliquote da g 15 ± 0,01 di omogenizzato (ogni aliquota corrisponde a g 10 di molluschi); deporre le capsule su piastra riscaldante e sotto epiradiatore. Regolare la temperatura della piastra (∾ 200°C) e l'altezza dell'epiradiatore in modo da evitare surriscaldamenti e proiezioni di materiale. Essiccare e preincenerire fino a carbonizzazione. Trasferire le capsule in muffola fredda ed innalzare gradualmente la temperatura fino a 450°C. Incenerire per circa 1h, quindi estrarre le capsule, umettare cautamente le ceneri con acido nitrico concentrato e riporle in muffola. Ripetere il trattamento con acido nitrico fino ad ottenimento di ceneri bianche.

4.3. *Determinazione quantitativa.*

Riprendere le ceneri di ciascuna capsula con 2-3 ml di acido cloridrico 4N; agitare, riscaldare cautamente sino a dissoluzione e trasferire quantitativamente in quattro palloncini tarati da 10 ml. Lavare con acqua in modo da non superare in ciascun palloncino il volume di 7-8 ml. Identificare i quattro palloncini con quattro numeri progressivi.

4.3.1. Lettura spettrofotometrica.

Predisporre lo strumento nelle seguenti condizioni operative:

fiamma: aria-acetilene;

lunghezza d'onda: 283,3 nm;

velocità aspirazione: 2 ml/min;

lettura: con espansione di scala e/o con registratore e con correzione del fondo.

Portare a volume con acqua distillata la soluzione contenuta nel primo palloncino e misurare l'assorbimento a 283,3 nm eseguendo una serie di almeno 5 letture.

4.3.2. Curva di taratura.

Aggiungere al II, III e IV palloncino rispettivamente 0,5; 1,0; 1,5 ml delle soluzioni di riferimento contenente 10 µg/ml di piombo. Portare a volume con acqua. Misurare l'assorbimento delle tre soluzioni come indicato in 4.3.1.

Sottrarre a ciascuno dei tre valori letti la lettura eseguita al punto 4.3.1. (primo palloncino).

Con i valori ottenuti costruire la curva di taratura.

4.3.3. Calcolo.

Riportare sulla curva di taratura la misura eseguita al punto 4.3.1. e calcolare la concentrazione del piombo nella soluzione e quindi nel campione.

4.3.4. Determinazione della resa chimica.

E' opportuno verificare, per ogni diverso tipo di prodotto, il fattore di perdita dovuto alle diverse fasi del procedimento analitico.

A tale scopo procedere come descritto al punto 4.1. per l'omogenizzazione del campione e trasferire quindi in quattro capsule quattro aliquote da g 15 ± 0,01 di omogenizzato.

Aggiungere a tre aliquote 1 ml di soluzione di riferimento contenente 10 µg/ml di piombo; la quarta capsula sarà usata per la determinazione del fondo.

Eseguire sulle quattro aliquote la determinazione del piombo come descritto al punto 4. utilizzando la curva di taratura costruita al punto 4.3.2. Calcolare il valore medio del contenuto in piombo delle tre aliquote addizionate di 1 ml di soluzione di riferimento.

Sottrarre il valore del contenuto in piombo della quarta aliquota utilizzata per il fondo.

Il valore ottenuto rappresenta una misura della resa chimica del procedimento analitico ed il contenuto in piombo riscontrato nel campione va diviso per tale fattore.

Note.

Tutti i reagenti devono essere puri per analisi spettrale.
La vetreria deve essere lavata con agenti decontaminanti.

METODO PER LA DETERMINAZIONE DEL MERCURIO NEI MOLLUSCHI

1. Principio

Il campione è mineralizzato con miscela solfonitrica lo ione mercurio è ridotto allo stato metallico con cloruro stannoso ed estratto dalla soluzione in corrente di aria. I vapori di mercurio sono convogliati in cella cilindrica con finestra di quaro posta nel cammino ottico di uno spettrofotometro per assorbimento atomico e la determinazione si esegue misurando l'assorbimento alla lunghezza d'onda di 253,6 nm.

2. Apparecchiatura

2.1. *Omogenizzatore ad immersione in acciaio inox.*

2.2. *Digestore* costituito da un pallone della capacità di 100 ml munito di collo smeriglio su cui è innestato un refrigerante in vetro borosilicato (vedi fig. 1).

2.3. *Dispositivo per la riduzione del mercurio e trascinamento dei vapori,* costituito da un sistema chiuso di gorgogliamento e da una pompa peristaltica per la generazione della corrente d'aria (vedi fig. 2).

2.4. *Spettrofotometro per assorbimento atomico* munito di cella cilindrica con finestra di quarzo avente cammino ottico di mm 100 e diametro interno di mm 20, e di lampada a mercurio (a scarica o a catodo cavo).

3. Reattivi

3.1. *Soluzione di riferimento* contenente 1000 µg/ml di mercurio

Diluire questa soluzione al momento dell'uso con acido solforico 1N in modo da ottenere una concentrazione di 1 µg/ml di mercurio.

3.2. *Miscela solfonitrica* (1:1).

Miscelare volumi uguali di acido nitrico concentrato ed acido solforico concentrato.

3.3. *Soluzione di cloridrato di idrossilamina* (concentrazione 10% p/v).

Sciogliere g 12 di cloruro di sodio e g 12 di cloridrato di idrossilamina in acqua e portare a volume di 100 ml.

3.4. *Soluzione di cloruro stannoso biidrato* (concentrazione 10% p/v).

Sciogliere g 10 di cloruro stannoso biidrato in acido solforico 1N e portare a volume di 100 ml con lo stesso acido solforico.

4. Procedimento

4.1. *Mineralizzazione.*

Prelevare direttamente nel recipiente di omogenizzazione g 30 ± 0,05 della parte edibile dei molluschi ed aggiungere con pipetta a svuotamento ml 10 di acqua. Omogenizzare fino a sottile suddivisione. Trasferire g 4 ± 0,01 di omogenizzato (corrispondente a g 3 di molluschi) nel pallone del digestore, aggiungere ml 10 di miscela solfonitrica. Agitare e lasciare a temperatura ambiente per circa 15 minuti e riscaldare quindi cautamente con microfiamma regolando la temperatura in modo da mantenere la soluzione solfonitrica sempre in ebollizione incipiente. Proseguire il riscaldamento fino ad ottenere una soluzione limpida. Raffreddare il pallone ed aggiungere dall'alto del refrigerante 30-40 ml di acqua. Far bollire per altri 20 minuti per l'eliminazione degli ossidi di azoto. Raffreddare, lavare il refrigerante con 20 ml di acqua, trasferire in pallone tarato da 100 e portare a volume con acqua distillata.

4.2. *Determinazione quantitativa.*

4.2.1. Lettura spettrofotometrica.

Predisporre lo strumento nelle seguenti condizioni operative:

Lunghezza d'onda: 253,6 nm.

Lettura: con registratore.

Trasferire ml 5 di soluzione nella boccia di gorgogliamento. Aggiungere ml 0,5 di cloridrato di idrossilamina e collegare il palloncino al sistema di gorgogliamento. Versare dall'imbuto di carico ml 1 di cloruro stannoso ed iniziare immediatamente il gorgogliamento dell'aria. Registrare il segnale dell'assorbanza che cresce gradatamente fino ad un massimo e quindi diminuisce lentamente; effettuare la lettura in corrispondenza del massimo.

4.2.2. Curva di taratura.

Trasferire in 5 palloni tarati da 100 ml rispettivamente 10 ml di miscela solfonitrica e ml 0,00 — ml 1,00 — ml 2,00 — ml 3,00 — ml 4,00 di soluzione di riferimento contenente 1,00 µg/ml di mercurio.

Eseguire su queste soluzioni la misura dell'assorbanza come descritto al punto 4.2

Con i valori ottenuti si costruisce la curva di taratura.

4.2.3 Calcolo.

Riportare sulla curva di taratura la misura dell'assorbanza eseguita al punto 4.2.1. e calcolare la concentrazione del mercurio nella soluzione. Il valore ottenuto diviso per il peso del campione prelevato espresso in grammi dà il contenuto in mercurio dei molluschi espresso in microgrammi per grammo.

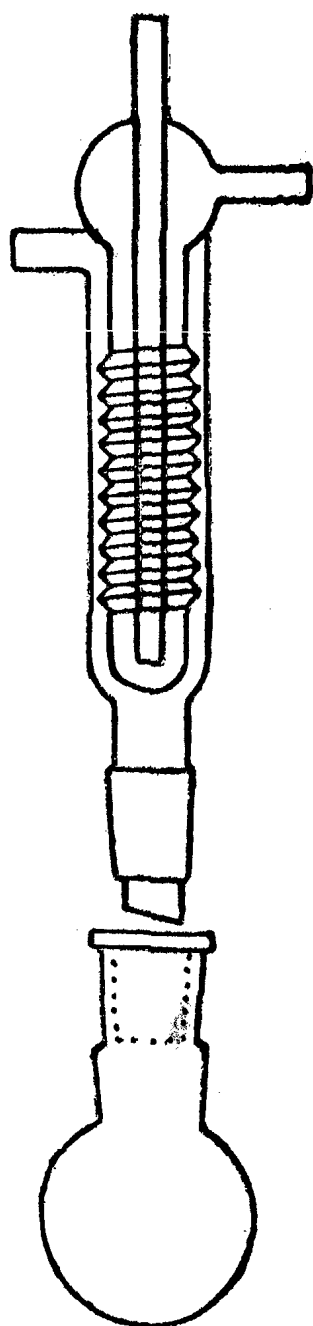



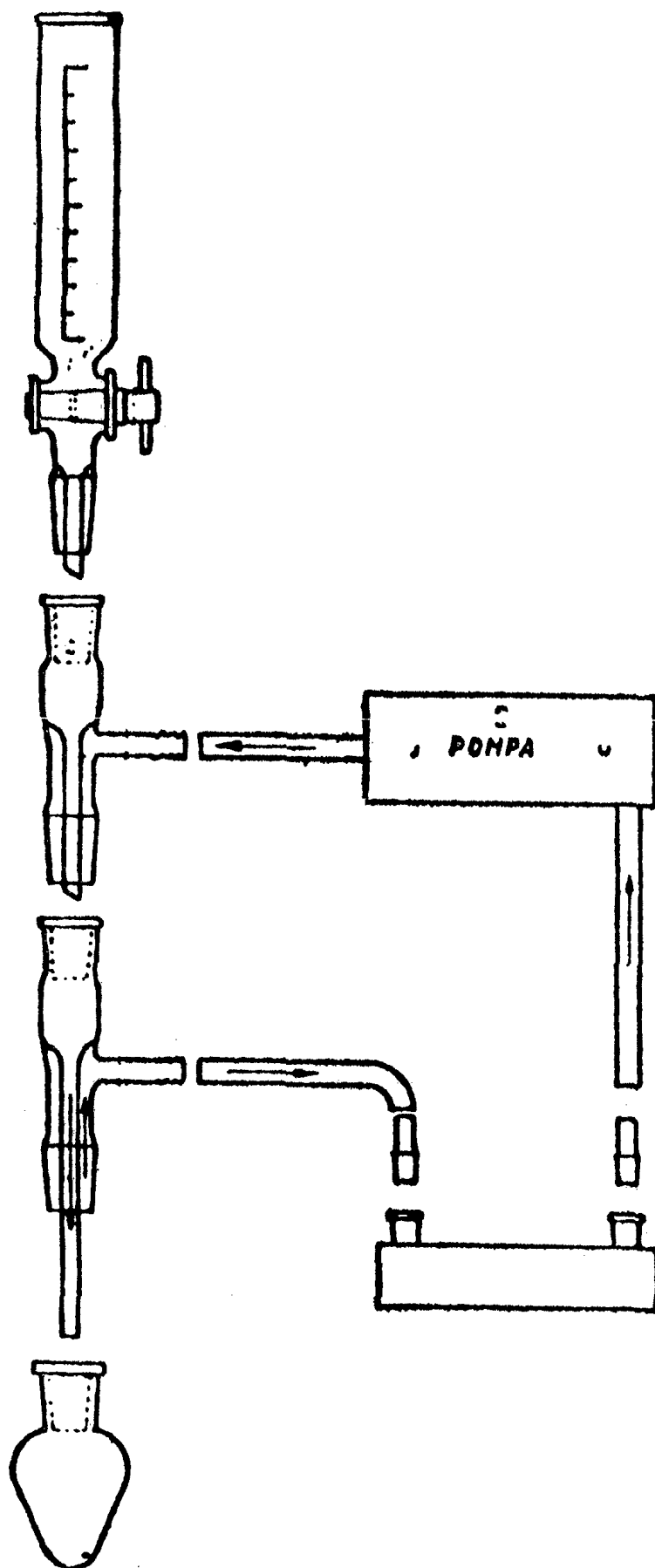
Figura 1

POMPA

Figura 2

(3751)

DECRETO MINISTERIALE 27 aprile 1978.

Norme concernenti i requisiti delle acque destinate al rifornimento degli impianti di depurazione di molluschi eduli lamellibranchi. Elenco delle specie di molluschi eduli lamellibranchi depurabili. Modalità del trattamento di depurazione.

IL MINISTRO DELLA SANITA'

Visto l'art. 12 della legge 2 maggio 1977, n. 192;

Vista la legge 10 maggio 1976, n. 319, concernente le norme per la tutela delle acque dall'inquinamento;

Vista la legge 30 aprile 1962, n. 283, e successive modifiche di cui alla legge 26 febbraio 1963, n. 441;

Considerata la necessità di emanare un primo elenco di molluschi eduli lamellibranchi dotati di capacità autodepurativa, in attesa dei risultati delle ricerche sulla depurabilità delle diverse specie di tali invertebrati;

Sentita la commissione di cui al decreto ministeriale 7 marzo 1978;

Sentito il Consiglio superiore di sanità;

Decreta:

Art. 1.

Acque destinate al rifornimento degli impianti di depurazione

Le acque destinate al rifornimento degli impianti di depurazione devono provenire da zone acquee comunque rientranti tra quelle classificate come approvate o condizionate.

E' consentita, tuttavia, l'attivazione di opere di captazione in falde profonde che, pur rientrando topograficamente in aree precluse, utilizzino acque aventi in ogni caso caratteristiche microbiologiche, biologiche, chimiche e fisiche corrispondenti ai valori fissati per quelle approvate o condizionate.

Le opere di captazione devono avere caratteristiche tecnico-costruttive adeguate alla situazione locale (profondità, maree, correnti etc.).

Gli impianti di depurazione già autorizzati all'entrata in vigore del presente decreto che abbiano le opere di captazione attivate in zone acquee classificate come precluse, devono adeguarsi alle disposizioni di cui ai precedenti commi. A tal riguardo potranno usufruire dei contributi di cui all'art. 17 della legge 2 maggio 1977, n. 192.

Art. 2.

Trattamento delle acque destinate al rifornimento degli impianti di depurazione

L'utilizzazione delle acque per l'alimentazione delle vasche di depurazione (acque di processo) è subordinata ai seguenti trattamenti:

a) eventuale sedimentazione e filtrazione dirette ad assicurare, sotto il profilo fisico-chimico, un ambiente rispondente alle esigenze biologiche delle diverse specie di bivalvi ed a correggere le eventuali condizioni indesiderabili di torbidità o derivanti da presenza di corpi estranei, determinate da situazioni idrografiche particolari;

b) disinfezione che assicuri la distribuzione dei microrganismi, ivi compresi quelli patogeni eventualmente presenti.

La distruzione di tali microrganismi deve essere accertata mediante esami microbiologici concernenti la ricerca, in un adeguato numero di campioni, degli indicatori di inquinamento fecale (Escherichia coli, enterococchi, clostridi solfito riduttori), che devono risultare assenti in almeno 50 ml di acqua per ogni campione prelevato. Per il trattamento di disinfezione delle acque possono essere utilizzati sia particolari agenti chimici (cloro, ozono, iodofori), con adeguata valutazione dei rapporti concentrazione/tempo di contatto degli agenti utilizzati in relazione alle caratteristiche fisico-chimiche delle acque (sostanze organiche in soluzione o in sospensione, temperatura etc.), sia agenti fisici (raggi UV. e filtrazione).

Per assicurare valori ottimali del rapporto concentrazione/tempo di contatto degli agenti chimici utilizzati per la disinfezione e per una adeguata riserva di acqua comunque indispensabile, indipendentemente dal processo di disinfezione, gli impianti di depurazione devono essere provvisti di vasche di riserva di acqua (depositi) di volume corrispondente ad almeno 5 m^3 per ogni 10 m^2 o frazione di superficie di vasca di depurazione effettiva.

E' ammesso un residuo degli agenti chimici utilizzati per la disinfezione corrispondente ai seguenti valori:

1) Cloro attivo: non superiore a 0,2 ppm e comunque in concentrazione tale da non compromettere la attività di filtrazione dei molluschi eduli lamellibranchi;

2) Iodofori: non più del 5 ‰ della quantità massima di impiego consentita per i singoli presidi autorizzati espressa come iodio attivo;

3) Ozono: in quantità tale da non provocare la emissione di gameti (uova e sperma) e comunque da non compromettere l'attività dei molluschi.

Art. 3.

Requisiti chimico-fisici delle acque di processo

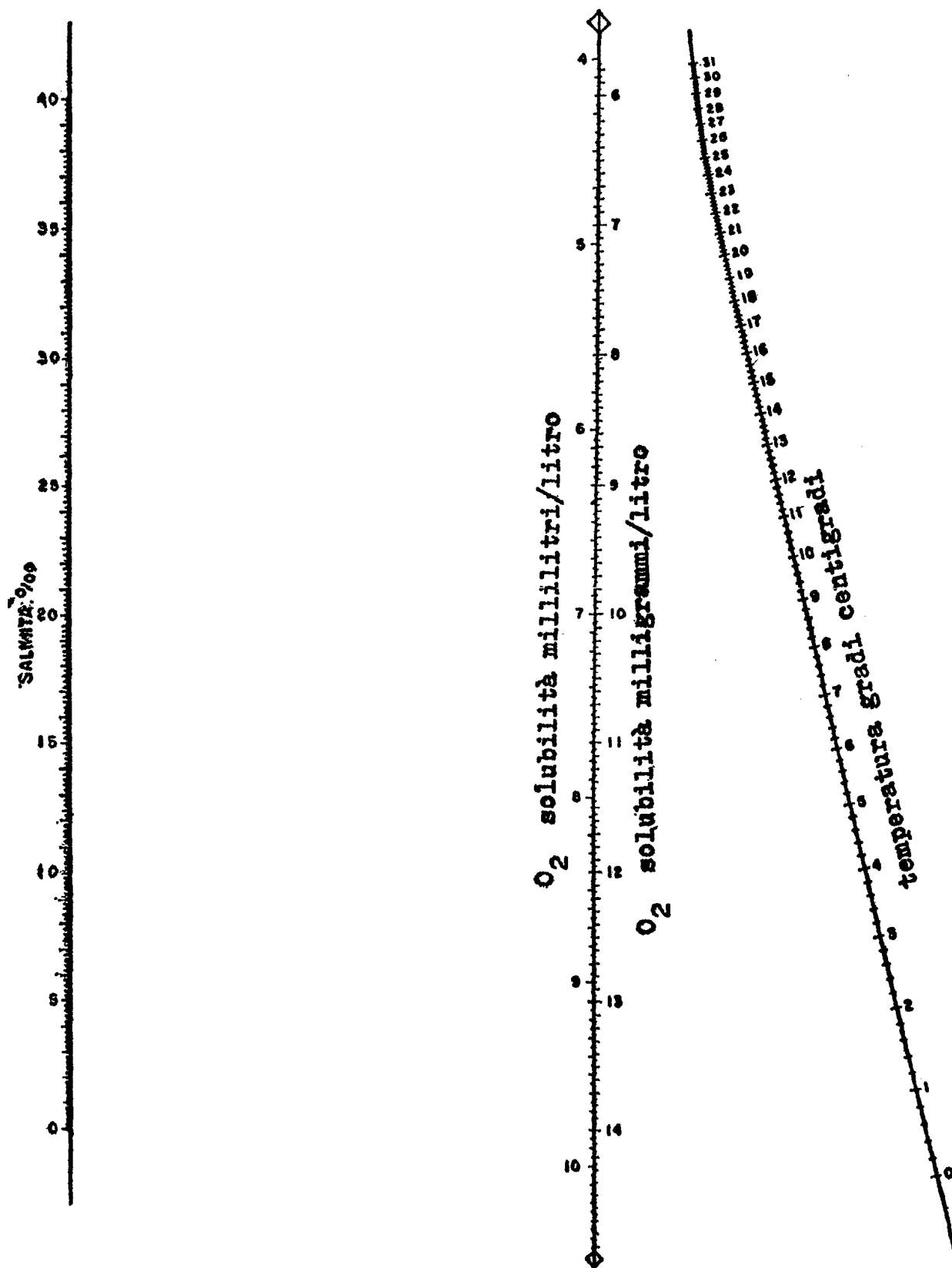
Le acque di processo devono rispondere ai seguenti requisiti chimico-fisici:

a) temperatura dell'acqua:

la temperatura dell'acqua deve essere compresa — in relazione alle zone acquee di provenienza — tra un minimo di 9°C ed un massimo di 25°-26°C e, comunque, entro limiti tali da rispondere alle esigenze biologiche delle diverse specie trattate e da assicurare sia una valida attività depurativa sia la vitalità del prodotto depurato;

b) concentrazione di ossigeno (O.D. ossigeno disciolto):

la quantità di ossigeno disciolto nell'acqua deve essere tale da assicurare, all'entrata nelle vasche, la saturazione — in rapporto alla temperatura ed alla salinità — secondo la seguente tabella:

TABELLA PER IL CONTROLLO DELLA SATURAZIONE DI O.D.

Una linea retta tracciata tra i valori delle due variabili inerenti la temperatura e la salinità intersecherà la terza variabile in corrispondenza del valore O_2 richiesto.

Per la saturazione si potrà utilizzare, all'occorrenza, il trattamento diretto con l'ossigeno o tramite aerazione.

Tale trattamento comunque non potrà essere effettuato direttamente nelle vasche di depurazione.

La determinazione dell'ossigeno disciolto viene fatta con il metodo Winkler o con altri metodi preventivamente tarati con il Winkler;

c) salinità.

L'acqua da destinare alle vasche di depurazione deve avere una salinità possibilmente costante e comunque con escursioni rientranti nei limiti tollerati dalle specie da sottoporre a depurazione;

d) pH.

E' ammessa una variazione del pH dell'acqua, dopo i trattamenti di cui al precedente art. 2, di ± 0,2 rispetto al pH iniziale.

Art. 4.

Modalità di depurazione

Il trattamento di depurazione è subordinato alle seguenti condizioni:

a) il volume minuto dell'acqua o portata idraulica deve corrispondere alla capacità depurativa dell'impianto.

A tal fine detto volume per ogni vasca deve risultare di entità tale da assicurare, all'uscita della vasca stessa, una concentrazione O_2 nell'acqua non inferiore al 60 % rispetto alla concentrazione di saturazione indicata alla lettera *b*) del precedente art. 3;

b) l'immissione e la distribuzione dell'acqua di processo nelle vasche deve avvenire in modo uniforme e comunque senza la formazione di vortici o di correnti che agiscano da stimoli fisici per i molluschi e riducano l'attività di filtrazione o risospendano sedimenti (feci, pseudofeci, fanghi, etc.) con grave pregiudizio per la depurazione,

c) la dinamica dell'acqua deve essere tale da ridurre al minimo la riutilizzazione, da parte dei molluschi posti in una sezione di vasca, dell'acqua già filtrata dai molluschi posti in una sezione precedente;

d) in base ai parametri di cui alle precedenti lettere del presente articolo, la superficie delle vasche va sviluppata entro limiti che rendano in ogni caso realizzabili i requisiti richiesti per l'O.D. indicati alla lettera *b*) dell'art. 3 del presente decreto;

e) la distribuzione dei molluschi nelle vasche, limitata comunque ad un solo strato non a contatto con il fondo, deve assicurare una densità non superiore a 45 km/m² di vasca;

f) le vasche devono essere costruite in modo da consentire un adeguato lavaggio e disinfezione.

Il fondo delle vasche deve avere una pendenza tale da consentire la facile rimozione del materiale sedimentato;

g) la durata del trattamento di risanamento dei molluschi previsto dall'art. 4, primo comma, lettera *a*), della legge, è subordinata ai seguenti fattori:

tecnica di depurazione;

provenienza da acque approvate o condizionate;

potere di accumulo e di eliminazione microbica, variabile per ogni specie di molluschi eduli lamellibranchi.

Art. 5.

Allontanamento e smaltimento dei fanghi e delle acque di processo. Accertamenti prescritti per l'autorizzazione degli impianti.

I fanghi e le acque di processo già utilizzati devono essere, prima del loro allontanamento, sottoposte ad idonei trattamenti di sedimentazione e disinfezione, che li rendano conformi alle caratteristiche prescritte dalla legge 10 maggio 1976, n. 319.

Lo sversamento in mare deve comunque avvenire ad adeguata distanza delle opere di captazione della acqua per gli impianti di depurazione.

Per particolari motivi igienico-sanitari o per evidenti esigenze tecniche, le acque di processo già utilizzate possono essere parzialmente o totalmente riciclate, previo adeguato trattamento di filtrazione e disinfezione, secondo le modalità prescritte nei precedenti articoli.

L'autorizzazione all'entrata in funzione degli impianti di depurazione è subordinata agli adempimenti previsti negli articoli precedenti che comportano, in particolare, i seguenti accertamenti:

determinazione dei requisiti microbiologici, chimici e chimico-fisici delle acque di processo prima della immissione nelle vasche;

controlli microbiologici sui molluschi prelevati all'inizio, al centro ed al termine delle vasche da ripetersi due volte durante il necessario periodo di trattamento (inizio e fine del trattamento) per il riscontro dell'efficacia della depurazione;

controllo della concentrazione di O_2 dell'acqua all'uscita di ogni vasca.

Art. 6.

Elenco delle specie di molluschi eduli lamellibranchi depurabili:

Crassostrea angulata;
Ostrea edulis;
Mjtilus galloprovincialis;
Modiola barbata;
Tapes decussatus;
Venus verrucosa;
Cardium edule;
Donax trunculus.

Art. 7.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, addì 27 aprile 1978

Il Ministro: ANSELMI

(3752)

ANTONIO SESSA *direttore* — DINO EGIDIO MARTINA, *redattore*

(8651078/2) Roma - Istituto Poligrafico dello Stato - S.